

Aus dem II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Bildung
der Somiten und der Coelomhöhle bei Rattenembryonen
(Tag 9+2 bis 13+2)

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Sabine Pfeiffer
aus Witzenhausen/ Hessen

1972



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550808_0078

Aus dem II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Bildung
der Somiten und der Coelomhöhle bei Rattenembryonen
(Tag 9+2 bis 13+2)

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Sabine Pfeiffer

aus Witzenhausen/ Hessen

Referent : Professor Dr. med. Hans-Joachim M e r k e r

Korreferent : Professor Dr. med. Willy S c h w a r z



Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am : 29.11.1972

INHALT

	Seite
Einleitung	1
Material und Methoden	7
Befunde	8
Diskussion	14
Zusammenfassung	23

Literaturverzeichnis

Bildmaterial

Einleitung

Eine der wichtigsten Fragen der Embryologie ist die nach den Bedingungen und Mechanismen der Differenzierung und funktionellen Spezialisierung von Einzelzellen und Zellverbänden im Rahmen der Histogenese und Organogenese eines Organismus. Für die Beurteilung solcher Vorgänge, besonders ihrer Störungen durch genetische und Umwelteinflüsse, ist es von entscheidender Bedeutung, morphologische Zelldifferenzierungen zu einem frühest möglichen Zeitpunkt zu erfassen. Es stellt sich dabei die Frage, wann zuerst die prospektive Bedeutung einer Zelle morphologisch zum Ausdruck kommt. Die große Lücke, die bisher zwischen biochemischen und histochemischen, faßbaren Vorgängen einerseits und lichtmikroskopisch darstellbaren Strukturen andererseits bestand, kann heute zum Teil durch die Elektronenmikroskopie überbrückt werden. Dazu soll diese Arbeit einen Beitrag leisten.

Aufgrund zahlreicher lichtmikroskopischer Untersuchungen an der Maus (BURCHARD 1901, SOBOTTA 1903 und 1911, SNELL 1941, GRUNEBERG 1943, OTIS and BRENT 1950, REINIUS 1965) und an der Ratte wissen wir, daß die embryonalen Entwicklungsstadien beim Säugetierorganismus zwar im einzelnen besonders in der Frühphase sehr unterschiedlich, grundsätzlich aber doch in ähnlicher Weise ablaufen wie bei den Amphibien (dazu BALFOUR 1885, HAMILTON 1969) und dem vielzitierten Hühnchen (WETZEL 1929, HUNT 1932, RAWLES 1936, JACOBSON 1938, RUDNICK 1944 und 1948, HAMBURGER and HAMILTON 1951, SPRATT 1955 und 1957, SPRATT and HASS 1960, BREMER 1962, ROSENQUIST 1966, DEUCHAR 1969).

Am Ende der Gastrulationsphase, in der durch bestimmte Gestaltungsbewegungen - abhängig vom Dottergehalt

und der Dotterverteilung und dem sich daraus ergebenden Furchungstyp des Eis - die präsumptiven Anlagebezirke an ihren definitiven Ort gelangen, finden wir in drei übereinander angeordneten Zellagen die sog. Keimblätter vor. Dieser Vorgang vollzieht sich beim Säugetier nicht in der bei den Amphibien beobachteten fortschreitenden Invaginationsbewegung von präsumptivem Entoderm- und Mesodermmaterial im Bereich des sog. Urmundes. Vielmehr können wir hier zwei Schritte erkennen: 1. die Delamination des Entoderms vom Ektoderm (dazu SPRATT 1942, RUDNICK 1944 und Untersuchungen zur "negativen Gewebeaffinität" bei HOLT-FRETER 1939 und 1943) und 2. das daran anschließende Einströmen des zukünftigen Mesodermmaterials im Bereich der sog. Primitivgrube und Primitivrinne. Dabei kann die Primitivgrube mit dem Urmund verglichen werden. Das einströmende lockere Zellmaterial breitet sich rasch zwischen den ersten beiden Keimblättern aus und bildet im Zuge der weiteren Ausformung des Keimlings die topographisch unterscheidbaren Regionen des axialen Kopf-, Rumpf- und Schwanz-Mesoderms und des lateralen Mesoderms (CLARA 1966, STARCK 1965).

Das nun folgende Stadium der Primärorganbildung bietet sich zum Studium jener Kräfte und Einflüsse an, die bei den frühen und häufig ausschlaggebenden Gestaltungsbewegungen sowie der morphologischen und funktionellen Differenzierung früher Gewebe von Bedeutung sind. Gerade die primitiven mesodermalen Strukturen stellen von der Multipotenz ihrer Zellen und der entsprechend großen Differenzierungsbreite her wohl das interessanteste Untersuchungsmaterial in dieser Hinsicht dar. Wir wollen deshalb diese Prozesse am Beispiel der Somiten mit der elektronenmikroskopischen Technik verfolgen.

Es existieren zahlreiche alte und neuere lichtmikro-

skopische Untersuchungen, in denen bereits die Entwicklung vom präsomitischen Stadium über das eines geordneten epithelialen Verbandes bis hin zur Auflösung und Ausschwärmung mesenchymaler Zellen bzw. zur Ausbildung primitiver Muskelzellen detailliert beschrieben werden (BALFOUR 1885, DEXTER 1891, WILLIAMS 1910, BUTCHER 1929, AREY 1938, WADDINGTON and DEUCHAR 1953, HINSCH and HAMILTON 1956, HAMILTON 1969). Aufgrund dieser Befunde ergibt sich folgendes Bild der Somitenentwicklung: Zunächst sondert sich aus dem noch lockeren Mesoderm die Chorda als stabförmige Zellmasse ab. Es folgt die Coelombildung, wobei sich die weiter lateral gelegenen Mesodermzellen zu einem dichten Zellverband anordnen und zu zwei Epithelblättern umformen, die einen Hohlraum - die Coelomhöhle - zwischen sich fassen. Durch Faltung sondert sich darauf beiderseits ein weiter axial liegender epithelialer präsomitischer Mesodermverband von der eigentlichen unsegmentierten Coelomhöhle ab. Wenig später setzt mit dem Zurückwandern des Primitivknotens die Gliederung dieses axialen Mesoderms ein, indem sich von medial her in cranio-caudaler Abfolge die sog. Intersegmentalspalten ausbilden, die die einzelnen Somiten voneinander trennen. Bei der Maus ist der erste Somit lichtmikroskopisch am Tag 7 zu sehen (OTIS and BRENT 1950); bei der hier besonders interessierenden Ratte lassen sich am Tag 10 die ersten voll ausgebildeten Somiten darstellen, am späten Tag 13 oder am Tag 14 kann ihre Zahl bis zu 55 betragen.

Die Somiten stellen sich im Lichtmikroskop anfangs als dicht gepackte Zellhaufen dar. Sie ordnen sich dann zunehmend in einen epithelähnlichen Verband um, der in typischer Rosettenform den zentral gelegenen Hohlraum (Myocoele) umschließt. Ob dieser Hohlraum

eine ursprünglich kontinuierliche Fortsetzung des Coeloms darstellt oder aber sekundär im Laufe der Somitenstrukturierung entsteht, ist noch nicht geklärt und wohl auch bei den einzelnen Spezies verschieden. DEXTER (1891) findet z.B. einen gemeinsamen Hohlraum von Myocoele und Coelom nur in den ersten zwölf bis zwanzig Somiten des Hühnchens und meint, daß bei der Obliteration des Verbindungsstückes der Verlauf der großen Gefäße eine entscheidende Rolle spiele. Die Myocoele wird bald durch einen Kern ("core") lockerer Zellen ausgefüllt, die aus dem ventralen und ventromedialen Teil der Somitenwand - dem prospektiven Sklerotommaterial - stammen (CLARA 1966). Die endgültige Auflösung des Verbandes und damit die Differenzierung zu den Anlagekomplexen der Sklerotome, Myotome und Dermatome beginnt ebenfalls im ventromedialen Bereich, und zwar damit, daß hier die Zellkontakte gelöst werden, die Somitenzellen sich abkugeln, sodann eine sternförmig verzweigte mesenchymale Gestalt annehmen und durch aktive amöboide Bewegungen in die Gebiete der späteren Organanlagen auswandern. Dort in der Peripherie stellt sich, analog dem ursprünglichen Zustand, eine metamere Gliederung ein (die allerdings bei den Dermatomen nur vorübergehender Natur ist bzw. dort bei einzelnen Spezies - siehe HAMILTONs Arbeit über *Xenopus* 1969 - gar nicht auftritt).

Bezüglich der Abfolge in der Ausbildung der einzelnen Somiten stellt bereits WILLIAMS (1910) ein "cranio-caudales Reifungsgefälle" fest, das sich nicht nur in einer zeitlichen Phasenverschiebung hinsichtlich der Organisation und Auflösung der Einzelsomiten äußert, sondern auch darin, daß jeder hinzukommende Somit eine von Anbeginn an weiter

fortgeschrittene Struktur zeigt als der vorhergehende. Analog dazu findet LASH (1967), daß beim Hühnchen die weiter caudalwärts gelegenen oder jüngeren Somiten eine größere Knorpelpotenz (d.h. eine größere "Reife" ihrer Zellen) besitzen als die vorderen. Die räumlichen Dimensionen stehen jedoch offensichtlich bei allen Somiten in einem bestimmten gleichbleibenden Verhältnis zueinander. Es vergrößert sich zwar der tatsächliche Zahlenwert des Volumens (aufsteigend bis etwa zum 33. Somiten, dann wieder abfallend), jedoch besteht eine "Tendenz, immer eine normale Gestalt beizubehalten"(WADDINGTON and DEUCHAR 1953).

Der größte Teil der veröffentlichten Arbeiten befaßt sich darüberhinaus am Beispiel des Hühnchens mit spezifischen Fragestellungen zur Rolle von induktiven Einflüssen (mechanische Induktion, chemische Induktion, Transmitter Substanzen, Lagebeziehungen, Zeitplan) im Sinne einer "abhängigen Differenzierung" bzw. von primär zellulärer Determination im Sinne einer "unabhängigen" oder "Selbst-Differenzierung". Übereinstimmend kann man aus den Arbeiten von SPRATT (1955,1956,1957), FRASER (1957,1958,1959,1960), BREMER (1962), BELLAIRS (1963), DEUCHAR and BURGESS (1967) und FLOWER and GROBSTEIN (1967) folgern, daß neben einer gewissen Tendenz mesodermaler Zellen zur Selbstaggregation die Nähe sowohl zu Chorda als auch zu Neuralgewebe einen entscheidenden (wenn auch nicht obligatorischen, s. BELLAIRS 1963) Einfluß hat und daß vor allem die Regressionsbewegungen des Primärvknotens bei der cranio-caudalen Fortentwicklung der Somiten eine Rolle spielen. Zwar konnten stimulierende Substanzen (Cystein, s. FRASER 1960) und hemmende Substanzen (Leucin und Methionin-Antagonisten, s. HERMAN u.a. 1955) eingesetzt werden, jedoch gelang bisher nicht der Nachweis einer spezi-

fischen chemischen Transmitter Substanz.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Somitenentwicklung - die in den meisten Fällen nur das Hühnchen berücksichtigen - liegen bisher unseres Wissens nur von BALINSKI and WALTHER (1961), von SATOW et al. (1966) und von FRANCESCHINI and SANTORO (1968) vor.

In dieser Arbeit wollen wir deshalb mit Hilfe des Elektronenmikroskops die frühesten morphologischen Korrelate der im Rahmen der Somitenbildung bei der Ratte auftretenden zellulären und geweblichen Differenzierung darstellen. Dabei interessieren uns besonders folgende Gesichtspunkte und Fragen:

1. Die Beschreibung der normalen Somitenentwicklung bei der Ratte zur Gewinnung von Grundlagenmaterial für die Beurteilung teratogener Einflüsse in jener Periode.
2. Im Einzelnen: Veränderungen des Oberflächen- und Kontaktverhaltens sowie morphologische Veränderungen der intrazellulären Strukturen im Stadium der Somitenbildung und des vollentwickelten epithelialen Verbandes.
3. Zum Vergleich: Die Darstellung eines anderen Kontaktverhaltens am Beispiel des embryonalen Coelomepithels.
4. Die Frage, ob sich möglicherweise aus den beobachteten Zellstrukturen Rückschlüsse auf die prospektive Potenz bzw. Bedeutung der Zellen ziehen lassen.

Material und Methoden

Die von uns untersuchten Rattenembryonen stammen von einem Wistar-Inzucht-Stamm (Paderborn, FW 69). Die Tiere wurden bei verschobenem Tag-Nacht-Rhythmus in feuchtigkeits- und temperaturgeregelten Räumen bei Altromin-Futter und Wasser ad libitum gehalten. Die Verpaarung erfolgte in der Zeit von 7:30 bis 10:30, nachdem durch Vaginalabstrich der Oestrus bestimmt worden war. Die auf die Verpaarung folgenden 24 Stunden sollen als Tag 0 für die spermienpositiven Tiere gelten. Dabei wird der Schwangerschaftsbeginn auf 8:00 festgelegt, und die danach verstrichenen Stunden werden durch Zusatzzahl in der Altersformel wiedergegeben (15:00 am Tage 2 würde demnach der Formel 2+7 entsprechen). Die hier berücksichtigten Embryonen entstammen den Tagen 9+2 bis 13+2. Sie wurden nach Eröffnung der Bauchhöhle freipräpariert und sofort für 2 bis 3 Stunden fixiert. (Dabei wurde in den frühen Stadien noch Deciduagewebe am Embryo belassen; ab Tag 11 gelingt eine Isolierung des Embryos routinemäßig.) Die Fixierungslösung bestand aus 3%igem Glutaraldehyd, 3%igem Paraformaldehyd und einer 0,1m Phosphatpufferlösung (pH 7,2). Anschließend wurden die Präparate gewaschen und in OSO_4 -Lösung (0,1m Phosphatpuffer bei pH 7,2) nachfixiert. Es folgte die Entwässerung in der aufsteigenden Acetonreihe und die Einbettung der Embryonen bzw. der Embryo-Decidua-Komplexe in toto in Mikropal.

Zur Orientierung im Einbettungsblock wurden sog. Semidickschnitte ($1/2$ bis $1/\mu$ Dicke) angefertigt, die nach Färbung mit alkalischer GiemsaLösung bei 60° im Lichtmikroskop gut zu beurteilen sind. Nachdem so die entsprechenden Stellen für die Elektronenmikroskopie ausgewählt werden konnten, wurden mit

Hilfe von LKB-Ultratomen Dünnschnitte hergestellt und mit Uranylacetat-Bleicitrat nachkontrastiert. Für die Aufnahmen benutzten wir Siemens Elmiskope I und Ia bei einer Strahlspannung von 80 kV (Blenden 200/50 μ) und einer Primärvergrößerung von 1000 bis 40.000. Die Auswertung erfolgte an 3 1/2-fachen Nachvergrößerungen auf Papier.

Befunde

I. Die Somitenentwicklung

a) Lichtmikroskopische Befunde

In der frühen Phase der Entwicklung (früher Tag 9) besteht der Rattenkeim aus zwei kontinuierlichen Zellverbänden - Ektoderm und Entoderm -, einer dazwischen gelegenen zentralen Verdichtungszone - der Chordaanlage - und lateral davon regellos verteilten Einzelzellen - dem frühen Mesoderm. Wenig später hat sich dieses zunächst lockere Zellmaterial paraxial zu unregelmäßig begrenzten und ungegliederten Zellhaufen, den Ursegmenten oder Somiten, verdichtet. Dieser Vorgang läuft in cranio-caudaler Richtung ab, es besteht also ein deutliches Reifungsgefälle. Am Tag 13 lösen sich cranial bereits wieder Somiten auf, während caudal noch immer neue entstehen. Bei der Auswertung lichtmikroskopischer Bilder konnten wir gleichzeitig etwa 38 Somiten darstellen.

b) Elektronenmikroskopische Befunde

In der frühen Phase der Entwicklung (Tag 9) zeigt die Chorda bereits einen deutlich epithelialen Aufbau, während das paraxiale Mesoderm auch im Elektronenmikroskop das typische Bild eines embryonalen

Mesenchyms bietet: Zwischen einzeln liegenden Zellen mit z.T. langen Fortsätzen befinden sich weite Interzellularräume, die einzelne kleine Filamente enthalten, sonst aber optisch leer sind. Die Zellfortsätze benachbarter Zellen berühren sich nur selten. Die Kontaktpunkte sind morphologisch nicht besonders strukturiert. Der Kern dieser Zellen ist groß, aufgelockert und besitzt einen großen Nucleolus. Das Cytoplasma enthält neben einigen kleinen Mitochondrien vom Crista~~2~~ Typ und Hohlräumen des rauhen endoplasmatischen Retikulums vorwiegend freie Ribosomen, die als Polysomen gruppiert sind.

Während der sich anschließenden dichteren Lagerung der Zellen, die durch Zellteilung und wohl auch durch ein Zusammenströmen aufgrund aktiver Beweglichkeit bedingt ist, ändert sich das Kontaktverhalten der Zellen entscheidend. Es entstehen in großer Zahl die für diese embryonalen Zellen typischen zonulae occludentes (tight junctions) und sog. closed contacts (gap junctions). Bei den zonulae occludentes geht auf einer Strecke bis zu $1\frac{1}{2}$ μ der sonst vorhandene elektronenmikroskopisch sichtbare Interzellularraum verloren, indem die äußeren Lamellen der doppelt konturierten Zellmembranen miteinander verschmelzen und sich gleichzeitig das periphere Cytoplasma in diesen Bereichen verdichtet. Im Gegensatz dazu bleibt bei den closed contacts, die durch ähnliche cytoplasmatische Verdichtungszone gekennzeichnet sind, stets ein schmaler Interzellularraum von 50-75 Å erhalten. Die Kontaktstellen, die zunächst innerhalb der Zellhaufen regellos angeordnet zu sein scheinen, dehnen sich allmählich aus und umgeben schließlich als Bänder kontinuierlich einzelne Zellen. Die Zellen selbst beginnen sich dabei zu ordnen und gruppieren sich um

kleine Hohlräume, die im Zentrum der Zellhaufen entstehen.

In einem bestimmten Stadium sind also im paraxialen Mesoderm zahlreiche Zellgruppen zu beobachten, die über viele zonulae occludentes zusammenhängen. Im Zentrum dieser Gruppen sind Interzellularräume entstanden, die allmählich größer werden und typische Lumina bilden. Viele dieser Lumina fließen zusammen und ergeben die Coelomhöhle. Die Zellhaufen mit zentraler Höhle, die der Chorda am nächsten liegen, werden zu Somiten.

Der vollausgebildete Somit stellt sich schließlich dar als kugelig bis dreikantiger Zellkomplex mit einem zentral gelegenen Hohlraum. Die Höhle mit einer lichten Weite bis zu 100 Mikron wird von einem einschichtigen Zylinderepithel begrenzt. Die schlanken Zellen sind deutlich polar gegliedert. Man kann einen zum Lumen hinggerichteten Apex und eine zum umgebenden Bindegewebe hinweisende Basis unterscheiden: Im basalen Zellteil sitzt der Kern; apikal findet man den Hauptanteil der cytoplasmatischen Zellorganellen - auch jetzt noch viele freie Ribosomen sowie Mitochondrien, Räume des endoplasmatischen Retikulums und den Golgi-Apparat, die an Größe und Zahl zugenommen haben.

Die Kontur der Zellen zeigt im Bereich des Apex kuppelförmige Vorwölbungen, plumpere Fortsätze und alle Formen vesiculärer Einstülpungen. Die übrigen Partien der Zellmembran verlaufen relativ glatt. Zwischen den Zellen befinden sich unterschiedlich weite Interzellularräume. Im Bereich der Berührungszonen verlaufen die Membranen benachbarter Zellen über größere Strecken in einem Abstand von etwa 200 Å parallel zueinander. Es finden sich hier, abgesehen

von einigen closed contacts, keine differenzierten Kontaktpunkte. Im apikalen Bereich jedoch werden die Interzellularräume durch einen geschlossenen zonula occludens-Saum zum zentralen Lumen hin abgedichtet. Die Abgrenzung der Somiten zum umgebenden Mesenchym hin ist auch im Elektronenmikroskop zunächst nur schwer zu erkennen. Allmählich aber lagern sich die basalen Zellmembranen in gleicher Höhe nebeneinander, flachen ab und markieren so - ohne daß es zur Ausbildung echter Basalmembranen käme - eine deutlich darstellbare Umgrenzung der Somiten.

II. Das Coelomepithel

Die Anfangsstadien der Coelomentwicklung entsprechen den bei der Somitenbildung bereits geschilderten Vorgängen:

Einzel-Zellen gewinnen Kontakt zueinander über zonulae occludentes und entwickeln sich zu Zellhaufen mit einer zentralen Lichtung. Diese Zellhaufen ordnen sich allmählich in einer Ebene an, ihre Lumina fließen zusammen, und es entsteht so die einheitliche Coelomhöhle.

Bei der elektronenmikroskopischen Beurteilung des Coelomepithels können klar zwei Bereiche unterschieden werden: 1.) Bereiche, die früh eine scharfe Abgrenzung gegenüber dem Mesenchym erfahren, wie z.B. das Gebiet der Herzanlage, und 2.) Bereiche, in denen ein ständiger Abfluß von Zellen zum Aufbau des Mesenchyms stattfindet, die sog. Splanchno- und Visceropleura.

Der scharf vom Mesenchym abgegrenzte Teil des Coelomepithels (z.B. Herzanlage) bildet früh eine Basalmembran aus, die bereits am 10. Tag deutlich nachzuweisen ist. Die Zellen sind hier von kubischer, selten zylindrischer Form. Ihre Apices wölben sich leicht in die Coelomhöhle vor. Die lateralen Zellgrenzen sind relativ glatt, die Membranen benachbarter Zellen laufen auf lange Strecken in einem Abstand von $200 \text{ \AA}$ parallel nebeneinander her. Nur an wenigen Stellen erweitert sich dieser schmale Interzellularraum zu größeren Interzellularlücken. Im apikalen Teil der Zellen findet man eine Verknüpfung und Abdichtung des Interzellularraumes durch zonulae occludentes. Der basal gelegene Kern ist meist rund und enthält aufgelockertes Karyoplasma mit einigen randständigen Chromatinverdichtungen und einem großen aufgelockerten Nucleolus. Im Cytoplasma überwiegen freie Ribosomen in Polysomenform, daneben kommen einige Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Retikulums und einige Mitochondrien vor.

Im Bereich der Splanchno- und Visceropleura bietet sich ein völlig anderes Bild. Hier findet man hochprismatische, langausgezogene Zellen, deren Kerne in wechselnder Entfernung vom Lumen liegen. Im lichtmikroskopischen Schnitt erkennt man ein typisches mehrreihiges Epithel. Alle Zellen erreichen, wenn auch in unterschiedlicher Breite, das Lumen. Die Apices wölben sich etwas in die Coelomhöhle vor und tragen vereinzelt Mikrovilli. Ein Verschluß der Interzellularräume im apikalen Teil durch zonulae occludentes ist auch hier nachzuweisen. Die Begrenzung dieses Epithelverbandes zum Mesenchym hin ist jedoch außerordentlich unregelmäßig: Einzelne Zellen ziehen mit Fortsätzen weit in die Um-

gebung hinein, andere haben sogar den Großteil ihres Cytoplasmas einschließlich des Kernes in das Mesenchym hineinverlagert, bleiben aber immer über einen dünnen Ausläufer mit dem Lumen verbunden. Daneben kommen einzelne auffallend abgerundete Zellen vor, die sich offenbar aus dem Verband des Coelomepithels gelöst und dann sofort abgekugelt haben. Das Hineinreichen der Zellen in mesenchymales Gebiet in Zusammenhang mit einer so unregelmäßigen Epithel-Mesenchym-Grenze muß als morphologisches Substrat der Zellauswanderung betrachtet werden. Eine Basalmembran ist in diesen Bereichen bezeichnenderweise nicht darzustellen. Die Feinstruktur des Cytoplasmas entspricht mit zahlreichen freien Ribosomen und einigen anderen Zellorganellen dem bereits mehrfach beschriebenen Bild embryonaler Zellen.

Diskussion

Bei der Somitenbildung fallen als entscheidende morphologische Kriterien zwei Eigenschaften der beteiligten Zellen ins Auge: die Adhäsionsneigung und die Polarisierung der Zellen. Beide Phänomene sind im direkten Zusammenhang mit der Bildung und Auflösung der Somiten zu beobachten.

Zellen mesodermaler Herkunft können im Laufe ihrer Differenzierung zwei Richtungen einschlagen, die durch ein entgegengesetztes Kontaktverhalten bestimmt sind:

1. Zellen mit einer hohen Kontaktfähigkeit der Membran, die sich zu epithelialen Verbänden zusammenfinden, wie z.B. die Tubulusepithelien der Niere und das Coelomepithel.
2. Zellen, die die Tendenz haben, möglichst isoliert zu bleiben. In der Kultur läßt sich das letztere Verhalten, die sog. contact inhibition, besonders gut an Fibroblasten nachweisen (ABERCROMBIE 1961).

Bei den Somitenzellen wie auch bei den Coelomepithelzellen der Ratte können wir beide Verhaltensweisen beobachten. Im präsomitischen Mesenchym liegen die Zellen in isolierter Form vor, die wenigen schmalen Kontaktstellen zeigen keine besondere Differenzierung. Im Verlaufe der Somitenbildung kommt es jedoch zu ausgedehnten und breitflächigen Kontakten, die zusätzlich durch differenzierte Strukturen wie zonulae occludentes abgesichert sind. Diese Veränderung der Adhäsionsverhältnisse ist nur zu deuten auf Grund einer Differenzierung im Oberflächenverhalten der Zellen, das durch den molekularen Aufbau der Zellmembran und die Ausbildung eines spezifischen

"surface Coat" bestimmt ist. Unklar sind dabei noch die biochemischen und morphologischen Vorgänge, die sich während der Veränderung des Kontaktverhaltens abspielen. Zunächst wäre zu klären, ob sich solche Veränderungen an jeder einzelnen Zelle abspielen, also ein Zeichen von Differenzierung und Reifung sind - oder ob sie generationsabhängig, d.h. durch Zellteilung bedingt sind. Bei der Proliferationsaktivität gerade dieser frühen Stadien muß aber zweifellos eine hohe Mitoserate mitberücksichtigt werden. Über die eigentlichen molekularbiologischen Verhältnisse an der Zelloberfläche liegen bereits einige, wenn auch noch nicht gesicherte Befunde vor. Sicher spielen Mucopolysaccharid-Protein-Komplexe bzw. Glycoproteide oder andere zuckerhaltige Eiweißverbindungen eine wesentliche Rolle. Es wird angenommen, daß die Zunahme solcher Substanzen an der Oberfläche von Zellen die Kontaktfähigkeit vergrößert. Zusätzlich soll Calcium den Zellkontakt festigen, indem durch eine Bindung nach beiden Seiten die Enden der fädenförmigen Macromoleküle verknüpft werden (WEISS 1958, MERCER 1964, MERKER 1964, CURTIS 1967, REVEL and ITO 1967, REVEL and KARNOVSKI 1967).

Diese Vorstellungen werden durch die Ergebnisse von Versuchen gestützt, Zellen mittels Enzymen aus ihren Verbänden zu isolieren. Es gelang hierbei nämlich, durch Behandlung mit Trypsin, Neuraminidase und Ca-Chelatbildnern eine Zellisolierung zu erreichen. Die entsprechenden Substrate dieser Enzyme müssen also an der Zelloberfläche vorhanden sein (MERKER 1964, WEISS 1958). Außerdem konnte bei Untersuchungen über den Lebenszyklus koloniebildender Schleimpilze eine Beteiligung von Glycoproteiden an der spezifischen Aggregation der Zellen nachgewiesen werden. Die zur Aggregation notwendigen Polysaccha-

ride wurden in den Zellen gebildet und während der Aggregation der Schleimpilze an die Oberfläche transportiert (RISSE 1970).

Neben diesen Vorgängen an der Zelloberfläche ist aber außerdem noch die Frage zu klären, wie es überhaupt zum Zusammentreffen der Einzelzellen als Voraussetzung zur Adhäsion kommt. Es könnte sich einmal um ein zufälliges Aneinanderstoßen handeln, das zur Verklebung führt. Andererseits muß natürlich an eine gerichtete Häufung von Zellen an umschriebenen Stellen gedacht werden. Hierbei käme eine Ausrichtung durch Bindegewebstexturen oder aber eine Anlockung durch chemotaktische Stoffe in Frage. Allein morphologisch kann zu diesen Problemen nicht Stellung genommen werden. Jedoch wird sicherlich der Kontakt auf Grund der durch Zellteilung bedingten Vermehrung der Zellen gefördert, da auf diese Weise die statistische Möglichkeit einer Berührung größer wird.

Im Zuge der Somitenentwicklung ist also die Zellmembran in einen entscheidenden Differenzierungsprozeß miteinbezogen. Diese Veränderung der Zellmembran bildet erst die Voraussetzung für den engen Kontakt innerhalb des epithelialen Somitenverbandes.

Im Anschluß an die volle Ausprägung der Somiten und der Somitenstiele lösen sich diese epithelialen Strukturen dann zu großen Teilen wieder auf und entlassen erneut isolierte Einzelzellen in die umgebenden Gewebe. Diese freiwerdenden Zellen stellen die eigentlichen Mesenchymzellen dar, die demnach sekundär ihre Fähigkeit zur Adhäsion verloren haben. Dies zeigt, daß in den frühen Stadien der mesodermalen Entwicklung die Oberflächenstruktur und das

Kontaktverhalten der Zellen eine morphogenetisch entscheidende Rolle spielen.

Neben der Ausbildung von Zellkontakten ist die Prägung einer Polarität im Inneren der Zellen ein weiteres signifikantes Merkmal der Somitenbildung. Diese parallel verlaufende Polarisierung manifestiert sich gegen Ende deutlich durch ein apikales Schlußleistennetz, durch apikale Microvilli und durch die basale Lage der Kerne bei vorwiegender Verteilung der Zellorganellen im apikalen Teil. Die prämesodermalen Einzelzellen zeigen noch keine derartige Axen- oder Symmetriebildung. Die intrazelluläre Polarisierung tritt zuerst mit zunehmender Adhäsionskraft auf, um dann bei den eigentlichen Mesenchymzellen wieder zu verschwinden

Zweifellos hängen also diese beiden morphologisch faßbaren Kriterien der mesodermalen Differenzierung - Adhäsion und Polarität - in irgendeiner Weise zusammen oder bedingen sich sogar gegenseitig. Der zeitliche Verlauf in unseren Befunden läßt vermuten, daß das Adhäsionsverhalten dabei die führende Rolle spielt.

Die frühzeitige Verknüpfung der mesodermalen Zellverbände hat allerdings, wie aus Untersuchungen an erwachsenen Geweben geschlossen werden kann, neben der Adhäsion noch eine andere Bedeutung. An einschichtigen Epithelverbänden erwachsener Tiere ließ sich zeigen, daß solche Kontaktstellen in der Lage sind, den Interzellularraum zum Lumen hin weitgehend abzudichten: Versuche mit elektronendichten Substanzen ergaben, daß die zonulae occludentes für diese Stoffe fast impermeabel sind. Ebenso zeigten an einschichtigen Epithelien mit Mikroelektroden durchgeführte Widerstandsmessun-

gen, daß sogar kleinste Moleküle und Ionen die Barrieren nicht zu durchdringen vermochten. (Lit. siehe FARQUHAR and PALADE 1963; REVEL and KARNOVSKY 1967; MERKER 1969; Mc NUTT and WEINSTEIN 1970.)

Während so der Interzellularraum zum Lumen hin abgedichtet wird, sind die verschmolzenen Membranen innerhalb des Zellverbandes frei durchlässig für Ionen und kleinere Substanzen. Diese Tatsache konnte ebenfalls an Hand von Widerstandsmessungen mit Mikroelektroden, darüberhinaus durch die Beobachtung der intra- und extrazellulären Verteilung von markierten und fluoreszierenden Stoffen bewiesen werden. (Lit. siehe AGRELL 1966; HERZER et al. 1969; JAMAKOSMANOVIC and LOEWENSTEIN 1968; LOEWENSTEIN 1966; Mc NUTT and WEINSTEIN 1970; SHERIDAN 1966.)

Zellverbände wie die des Mesoderms, die durch zonulae occludentes miteinander verknüpft sind, können deshalb auf Grund ihres einheitlichen Milieus an Ionen und anderen Substanzen als funktionelle Einheiten betrachtet werden. Für den Embryo bedeutet das eine Unterteilung in zwei biochemisch und biophysikalisch differente Kompartments: "innerhalb" und "außerhalb" der miteinander verknüpften Zellschichten. Jede Substanz, die in die mesodermalen Hohlräume (z.B. das Myocoel oder die Coelomhöhle) hinein- oder herauskommt, kann also nur t r a n s zellulär, nicht interzellulär transportiert werden. Da die Zellen eine selektive Permeabilität aufweisen und verändernd auf die permeierenden Stoffe einwirken können, muß angenommen werden, daß sich die Flüssigkeit im mesenchymalen Interstitium in ihrer Zusammensetzung deutlich von derjenigen innerhalb der mesodermalen Hohlräume unterscheidet. Möglicherweise hängt auch dieses

Verhalten mit der Polarisierung der Zellen in den einschichtigen embryonalen Epithelien zusammen. Darüberhinaus erleichtert diese Vereinheitlichung zweifellos den synchronen Ablauf von Differenzierungsvorgängen in den betreffenden Zellverbänden.

Bezüglich der Basalmembran unterscheiden sich die einzelnen mesodermalen Epithelverbände untereinander sowie von anderen einschichtigen Epithelien. Die Abgrenzung zum Mesenchym hin ist nur in einzelnen Bereichen (z.B. im Bereich der Herzanlage) deutlich vorhanden. Normalerweise ist die Verankerung auf einer Basalmembran ein charakteristisches Merkmal stark polarisierter Zellen. Offenbar ist sie jedoch keine unbedingte Voraussetzung zur Prägung der Polarität. Befunde der letzten Zeit (von BRUCHHAUSEN und MERKER 1965, 1966) haben darauf hingewiesen, daß die Basalmembran ein außerordentlich widerstandsfähiges Gebilde ist. Angesichts dieser Tatsache erscheint das Fehlen der Basalmembran an den beschriebenen Stellen als durchaus sinnvoll, da ja die mesodermalen Zellverbände vorübergehender Natur, d.h. zur Auflösung bestimmt sind. Eine Basalmembran würde deshalb diesen Prozeß empfindlich stören. Aus diesen Überlegungen ergibt sich, daß offenbar genetisch fixierte Informationen oder Unterschiede zwischen "außen" und "innen" die Polarität der epithelialen einschichtigen Mesodermverbände prägen. Die Basalmembran kann dabei keine ausschlaggebende Rolle spielen.

Die sich aus dem mesodermalen Verband später wieder lösenden Zellen weisen eine außerordentlich starke prospektive Potenz auf: Aus ihnen entwickeln sich bekanntermaßen Bindegewebe, Stützgewebe und Muskulatur. Die klassische Embryologie bezeich-

net deshalb einzelne Bereiche der Somiten bzw. des Coelomepithels als Myotom, Dermatome und Sklerotome bzw. Splanchno- und Visceropleura. Uns schien von daher die Frage interessant, ob sich die prospektiven Potenzen zum Zeitpunkt der Somitenausreifung mit Hilfe des Elektronenmikroskops überhaupt schon morphologisch erfassen lassen. Dieser Versuch muß jedoch als fehlgeschlagen betrachtet werden. Im Stadium des vollausgebildeten Somiten fehlen den Zellen noch jegliche morphologischen Zeichen, die als Hinweis auf ihre spätere Entwicklung zu werten wären.

Die Tatsache, daß zu diesem Zeitpunkt offenbar noch kein morphologisches Äquivalent der prospektiven Potenz vorhanden ist, scheint uns aus zweierlei Gründen nicht überraschend: Zunächst müssen die Somitenzellen, nachdem sie aus dem Verband freigegeben sind, noch eine große Anzahl von Teilungen, z.T. auch eine Wanderung über weite Strecken durchmachen, ehe sie in ihre eigentliche Differenzierungsphase eintreten können. Die Zellen, die wir im Somitenverband beobachten, sind also - auf Grund der besonders hohen Mitoserate in diesen Gebieten - mit Sicherheit nicht diejenigen, die sich später zu beispielsweise Muskel- oder Knorpelzellen entwickeln. Die Somitenzellen sind somit nur als Stammzellen zu betrachten, bei denen die eigentlichen cytoplasmatischen Differenzierungsmerkmale (wie z.B. die Myofibrillen) noch nicht vorhanden sein können.

Als letzte Möglichkeit zur Beurteilung der prospektiven Potenz bliebe noch die Untersuchung des genetischen Apparates und des Informationssystems der Zellen, d.h. ihrer DNS- und RNS, in der die Anlagen und ihre Realisation verankert sind. Die

Darstellung dieser Substanzen und Strukturen im Elektronenmikroskop hat sich jedoch als außerordentlich schwierig erwiesen. So ist es bis heute noch nicht gelungen, den Kernstrukturen bestimmte Chromosomen bzw. den Kernfilamenten - die das elektronenoptische DNS-Äquivalent darstellen sollen - eine bestimmte Aktivität zuzuordnen. Bei der üblichen Präparationstechnik reicht das Auflösungsvermögen des Elektronenmikroskops noch nicht einmal aus, um sicher entscheiden zu können, ob ein DNS-Filament blockiert ist, also ruhend, oder ob es gerade in der DNS- oder RNS-Synthese begriffen ist. Auch die Beurteilung der RNS-haltigen Bestandteile ist schwierig. Eine sichere Darstellung der m-RNS und t-RNS im Schnitt gelingt nicht. Nur die sehr viel größeren Ribosomen liegen im Auflösungsreich. Die Zahl der freien Ribosomen bzw. Polysomen läßt daher lediglich einen Schluß auf die Höhe der Eiweißsyntheserate, nicht aber auf die Art des gebildeten Proteins zu (BIRBECK and MERCER 1961). Morphologisch kann also nur die Quantität, nicht jedoch die Qualität der Eiweißsynthese abgeschätzt werden: Ribosomen, die verschiedene Proteine bilden, lassen sich elektronenoptisch nicht unterscheiden. Das Vorhandensein vieler freier Ribosomen bei Zellen mit hoher mitotischer Aktivität ist mit der Notwendigkeit zur ständigen Proteinsynthese für die Zellneubildung bereits hinreichend erklärt. Rückschlüsse auf die prospektive Potenz der Zellen lassen sich aus diesen Strukturen nicht ziehen.

Am Ende der Diskussion über die elektronenmikroskopischen Befunde bei der Somitenbildung in Rattenembryonen soll auf die Diskrepanz zwischen lichtmikroskopischen und elektronenmikroskopischen

Befunden hingewiesen werden. Die von vielen älteren Autoren beschriebenen Einkerbungs- und Spaltungsvorgänge an den bereits vorgefundenen plattenförmigen und epithelartigen Zellverbänden im paraxialen Bereich, die schließlich zur Bildung von Somiten und Somitenstiel führen sollen, sind im Elektronenmikroskop nicht darstellbar. Elektronenoptisch läßt sich ein anderes Bild der Somitenentwicklung rekonstruieren:

Paraxial bilden sich zunächst kleinere Zellgruppen, die über zonulae occludentes verknüpft werden. Die von diesen Kontaktstellen umschlossenen Räume erweitern sich allmählich und bilden ein kleines Lumen. Lumen und Zahl der umgebenden Zellen vergrößern sich bis zum charakteristischen vollausgebildeten Somiten. Im Bereich der Somiten ist damit die Entwicklung abgeschlossen. Im Bereich des Coeloms jedoch fließen die zunächst isolierten Zellgruppen und später auch die Lumina zusammen.

Nach den elektronenmikroskopischen Befunden bei der Ratte gliedert sich also nicht eine größere Einheit in die entsprechenden kleineren Einheiten, die Somiten und Somitenstiele, auf, sondern kleinere Einheiten bilden von vornherein durch Zusammenfließen die typischen Strukturen aus. Ob diese Befunde auch bei anderen Spezies zu erheben sind, muß abgewartet werden. Falls sie auch hier nachzuweisen wären, müßten wir unsere Vorstellung von der Somitenentwicklung korrigieren.

Zusammenfassung

Bei Rattenembryonen der Tage 9+2 bis 13+2 wurde die Somitenbildung elektronenmikroskopisch untersucht. Sie beginnt mit der Ausbildung einer zentralen Verdichtungszone, der Chordaanlage, zu deren Seiten (paraxial) sich ein aus Einzelzellen bestehendes lockeres Zellmaterial befindet. Diese frühen mesodermalen Zellen sind weitverzweigt und haben nur höchst vereinzelte Berührungspunkte untereinander. Mit der in craniocaudaler Richtung ablaufenden Verdichtung zu Zellhaufen und fortschreitenden Strukturierung zum Epithelverband der Somiten ändern die Zellen ihr Kontaktverhalten. Die Oberfläche wird weitgehend glatt, es bilden sich "closed contacts" aus, und an besonderen Berührungspunkten entstehen die typischen embryonalen "zonulae occludentes". Die gleichzeitig einsetzende Polarisierung im Inneren der Zellen fällt als zweites charakteristisches Entwicklungsmerkmal ins Auge. Die Parallelität bei den Vorgängen deutet auf einen engen entwicklungs-dynamischen Zusammenhang hin.

Der reife Somit stellt sich dar als einschichtiger zylindrischer Epithelverband, der eine mehrere ¹⁰⁰⁻ Mikron weite Höhle, das Myocoel, umgibt. Die polar gegliederten Zellen sind durch closed contacts, apikal durch einen Saum von zonulae occludentes verbunden. Die Zellkerne liegen fast ausschließlich basal, während sich die cytoplasmatischen Organellen vorwiegend im apikalen Teil befinden. Eine echte Basalmembran ist nirgends ausgebildet.

Um das Charakteristische dieser embryonalen Strukturen aufzuzeigen, wurden analoge Merkmale im Bereich des Coelomepithels beschrieben.

Für die große prospektive Potenz der Somitenzellen

konnten keine spezifischen morphologischen Hinweise gefunden werden.

Einige Diskrepanzen zwischen licht- und elektronenmikroskopischen Befunden wurden besprochen: Wahrscheinlich gliedern sich die Somiten nicht aus einer praeexistenten Platte ab, sondern entstehen aus isolierten Zellhaufen. Die Coelomhöhle entwickelt sich durch Verschmelzung und Zusammenfluß vieler Zellhaufen mit zentralem Lumen.

L i t e r a t u r

- ABERCROMBIE, M.: The basis of the locomotory behaviour of fibroblasts.
Exp.Cell Res.Suppl. 8, 188-198 (1961)
- AGRELL, I.P.S.: Continuity of the membrane systems in the cells of imaginal discs.
Z.Zellforsch. 72, 22-29 (1966)
- AREY, L.B.: The history of the first somite in human embryos.
Contr. to Embryol. 168, XXVII, 233-270 (1938)
- BALFOUR, F.M.: A Treatise on Comparative Embryology.
Vol.II: Vertebrata. Macmillan, London (1885)
- BALINSKI, B.J.
and H.WALTHER: The immigration of presumptive mesoblasts from the primitive streak in the chick as studied with the electron microscope.
Acta embryol. et Morphol.exp. 4, 261-269 (1961)
- BELLAIRS, R.: The development of somites in the chick embryo.
J.Embryol.exp.Morph. 11, 697-714 (1963)
- BIRBECK, M.C.
and E.H.MERCKER: Cytology of cells which synthesize Protein.
Nature 189, 558 (1961)
- BREMER, H.: Untersuchungen über die Bildung von Differenzierungsmustern am Mesoderm der Hühnchenkeimscheibe.
Roux' Archiv 154, 103-123 (1962)
- v.BRUCHHAUSEN, F.
u. H.J.MERCKER: Gewinnung und morphologische Charakterisierung einer Basalmembranfraktion aus der Nierenrinde der Ratte.
Naunyn-Schmiedebergs Archiv, 251, 1-12 (1965)
- v.BRUCHHAUSEN, F.
u. H.J.MERCKER: Morphologischer und chemischer Aufbau isolierter Basalmembranen aus der Nierenrinde der Ratte.
Histochemie 8, 90-108 (1967)
- BUTCHER, E.O.: The development of the somites in the white rat and the fate of the myotomes, neural tube and gut in the tail.
Am.J.Anat. 44, 381-439 (1929)
- CLARA, M.: Entwicklungsgeschichte des Menschen.
Edition Leipzig, Leipzig 1966
- CURTIS, A.S.G.: The Cell Surface. London: Zogos 1967
- DEUCHAR, E.M.: Effects of a mesoderm inducing factor on early chick embryos.
J.Embryol.exp.Morphol. 22, 295-304 (1969)

- DEUCHAR, E.M.
and A.M.C.BURGESS: Somite segmentation in amphibien embryos.
Is there a transmitted control mechanism?
J.Embryol.exp.Morph. 17, 349-358 (1967)
- DEXTER, S.: The somites and coelom in the chick.
Anat.Anz., Bd.6, 284-289 (1891)
- FARQUHAR, M.G.
and G.E.PALADE: Functional complexes in various epithelia.
J. Cell Biol. 17, 375-412 (1963)
- FLOWER, M. and
C.GROBSTEIN Interconvertibility of induced morpho-
genetic responses of mouse embryonic
somites to notochord and ventral-spinal-
chord.
Develop.Biol. 15, 193-205 (1967)
- FRANCESCHINI, M.P.
and A.SANTORO: The first cytological researches on the
fine structure of the somites, developing
"in ovo" and in culture.
Electron microscopy 1968, Tipografia poli-
glotta vaticana, Vol.II, 323-324, Rom 1968
- FRASER, R.C.: Somite genesis in the chick I. Stimulatory
factors in egg white.
Growth 21, 29-43 (1957)
- FRASER, R.C.: The role of induction in somite genesis
in the chick.
Anat.Rec. 131, 555 (1958)
- FRASER, R.C.: Somite genesis in the chick II.
Analysis of nutrients from yolk.
Biol.Bull. 116, 420-428 (1959)
- FRASER, R.C.: Somite genesis in the chick III. The role
of induction.
J.exp.Zool. 145, 151-163 (1960)
- Somite genesis in the chick IV. Activity
of sulfur containing compounds.
ebd. S.169
- GRUNEBERG, H.: Normal staging of the Mouse Embryo.
J. Heredity 34, 89-92 (1943)
- HAMBURGER, V. and
H.L.HAMILTON: A series of normal stages in the develop-
ment of chick embryo.
J. Morphol. 88, 49-92 (1951)
- HAMILTON, L.: The formation of somites in Xenopus.
J.Embryol.exp.Morph. 22, 2, 253-264 (1969)
- HERMAN, H., U.ROTH-
FELS-KONIGSBERG
and M.F.CURRY: Somitenentwicklung beim Hühnchen nach
Leucin- und Methionin-Antagonisten.
J.exp.Zool. 128, 359 (1955)

- HERZER, R.,
H. J. MERKER und
F. J. HABERICH: Resorptions- und Sekretionsstudien
am Darm.
Z. Ges. exp. Med. 150, 239-250 (1969)
- HINSCH, G. W. and
H. L. HAMILTON: The developmental fate of the first somite
of the chick.
Anat. Rec. 125(2), 225-238 (1956)
- HOLTFRETER, J. Gewebeaffinität, ein Mittel der embryonalen
Formbildung.
Arch. exp. Zellf. 23, 169-209 (1939)
- Properties and functions of the surface
coat in amphibian embryos.
J. exp. Zool. 93, 251-323 (1943)
- HUNT, T. E.: Potencies of transverse levels of the chick
blastoderm in the definite streak stage.
Anat. Rec. 55, 41-69 (1932)
- JACOBSON, W. The early development of the avian embryo
II. Mesoderm formation and the distribu-
tion of presumptive embryonic material.
J. Morph. 62, 445-501 (1938)
- JAMAKOSMANOVIC, A. Cell contacts.
and W. R. LOEWENSTEIN: J. Cell Biol. 38, 556-572 (1968)
- LASH, J. W. Differential behavior of anterior and po-
sterior embryonic chick somites in vitro.
J. exp. Zool. 165, 46-56 (1967)
- LOEWENSTEIN, N. R.: Intercellular connection.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 137, 441-453 (1966)
- MERCER, E. H.: The evolution of intracellular phospho-
lipid membrane systems. In: The interpreta-
tion of ultrastructure.
Academic press, New York-London (1962),
369-384
- The external surface of the cells and in-
tercellular adhesion. In: Recent progress
in surface science.
Academic Press, New York-London (1964),
Vol. I, 360-378
- MERKER, H. J.: Über den Aufbau der Zellmembran.
Berliner Medizin 15, 595-607 (1964)
- Das elektronenmikroskopische Bild der
Rattenvagina.
Habil. Schrift Freie Univ. Berlin (1964)
- Elektronenmikroskopische Morphologie der
intestinalen Resorption.
Vrh. D. Ges. Pathol. 53, 57-79 (1969)

Einführung in die Elektronenmikroskopie.
Thieme Verl. Stuttgart (1971), in Druck

- ROSENQUIST, G.C.: An autoradiographic study of labelled grafts in the chick blastoderm. Development from primitive-streak stages to stage 12. Contr. Embryol. Carnegie Inst. 38, 71-110 (1966)
- RUDNICK, D.: Early history and mechanics of the chick blastoderm.
Quart. Rev. Biol. 19, 187-212 (1944)
- Prospective areas and differentiation potencies in chick blastoderm.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 49, 761-772 (1948)
- SATOW, Y.,
N. OKAMOTO,
K. FUKAZAWA,
IKEDA, SHIMADA,
and IMABASHI: Electron microscopic observations on the embryo of the 8th day of gestation in the rat.
Hiroshima J. Med. Sci. 15, 407-418 (1966)
- SHERIDAN, J.D.: Electrophysiological study of special connections between cells in the early chick embryo.
(66)
J. Cell Biol. 31, C 1 - C 5 (1966)
- SOBOTTA, J.: Die Entwicklung des Eies der Maus vom ersten Auftreten des Mesoderms an bis zur Ausbildung der Embryonalanlage.
Arch. Mikr. Anat. 78, 271-352 (1911)
- SNELL, G.D.: The early embryology of the mouse. In: Biology of the laboratory mouse, G.D. Snell (Ed.), Philadelphia 1941
- SPRATT, N.T.: Location of organ-specific regions and their relationship to the development of the primitive streak in the early chick blastoderm.
J. exp. Zool. 89, 69-101 (1942)
- Analysis of the organizer center in the early chick embryo.
- I. Localization of prospective notochord and somite cells.
J. exp. Zool. 128, 121-164 (1955)
- II. Studies on the mechanics of notochord elongation and somite formation.
J. exp. Zool. 134, 577-612 (1956)
- III. Regulative properties of the chorda and somite centers.
J. exp. Zool. 135, 319-354 (1957)

- SPRATT, N.T.
and H.HASS: Importance of the morphogenetic movements in the lower surface of the young chick blastoderm.
J.exp.Zool. 144, 257-275 (1960)
- Mc NUTT, M.S.
and WEINSTEIN, R.S.: The ultrastructure of the nexus. A correlated thin-section and freeze-cleave study.
J. Cell Biol. 47, 666-688 (1970)
- OTIS, E.M.
and R.C.BRENT: Equivalent ages in mouse and human embryos.
Anat.Rec. 120, 33-64 (1950)
- RAWLES, M.: A study in the localization of organ forming areas in the chick blastoderm.
J.exp.Zool. 72, 271 ff (1936)
- REINIUS, W.: Morphology of the mouse embryo from the time of implantation to mesoderm formation.
Z. Zellforsch. 68, 711-723 (1965)
- Light and electron microscopy of REICHERT's Membrane, endoderm and trophectoderm during early egg implantation in the mouse.
J.Ultrastructure Res. 12, 242-(A) (1965)
- REVEL, J.P.
and S.IITO: The surface components of cells.
In: The specificity of cell surfaces, (Edts.: B.D.Davis and L.Warren), Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs N.Y. 1967, 211-234
- REVEL, J.P. and
M.J.KARNOWSKY: A twenty-angstrom gap junction with a hexagonal array of subunits in smooth muscle.
J. Cell Biol. 33, C7-C11 (1967)
- RISSE, H.J.: Zur Biosynthese spezieller Polysaccharide bei der Differenzierung Kolonie-bildender Amöben. Vortrag auf einem Colloquium des Sonderforschungsbereiches 29, 1970 der Freien Univ. Berlin
- STARCK, Dietrich: Embryologie. Verl.G.Thieme, Stuttgart 1965
- WADDINGTON, C.H.
and E.M.DEUCHAR: Studies on the mechanism of meristic segmentation I. The dimensions of somites.
J.Embryol.exp.Morph. 1, 349-356 (1953)
- WEISS, P.: Cell Contact. Internat.Rev.Cytol. 7, 391-424 (1958)
- WETZEL, R.: Untersuchungen am Hühnchen. Die Entwicklung des Keimes während der ersten beiden Bruttage.
Arch.Entw.Mech. 119, 188-321 (1929)
- WILLIAMS, L.W.: The somites of the chick.
Am.J.Anat. 11, 55-99 (1910)

Abb. 1 Typisches Mesenchym aus dem paraxialen Bereich eines Rattenembryos des Tages 9+2. Weitgehend isolierte Mesenchymzellen (M) mit Mitochondrien und vielen freien Ribosomen. Weite Interzellularräume (I), nur vereinzelte interzelluläre Kontakte (↓).

Vergr. 3500

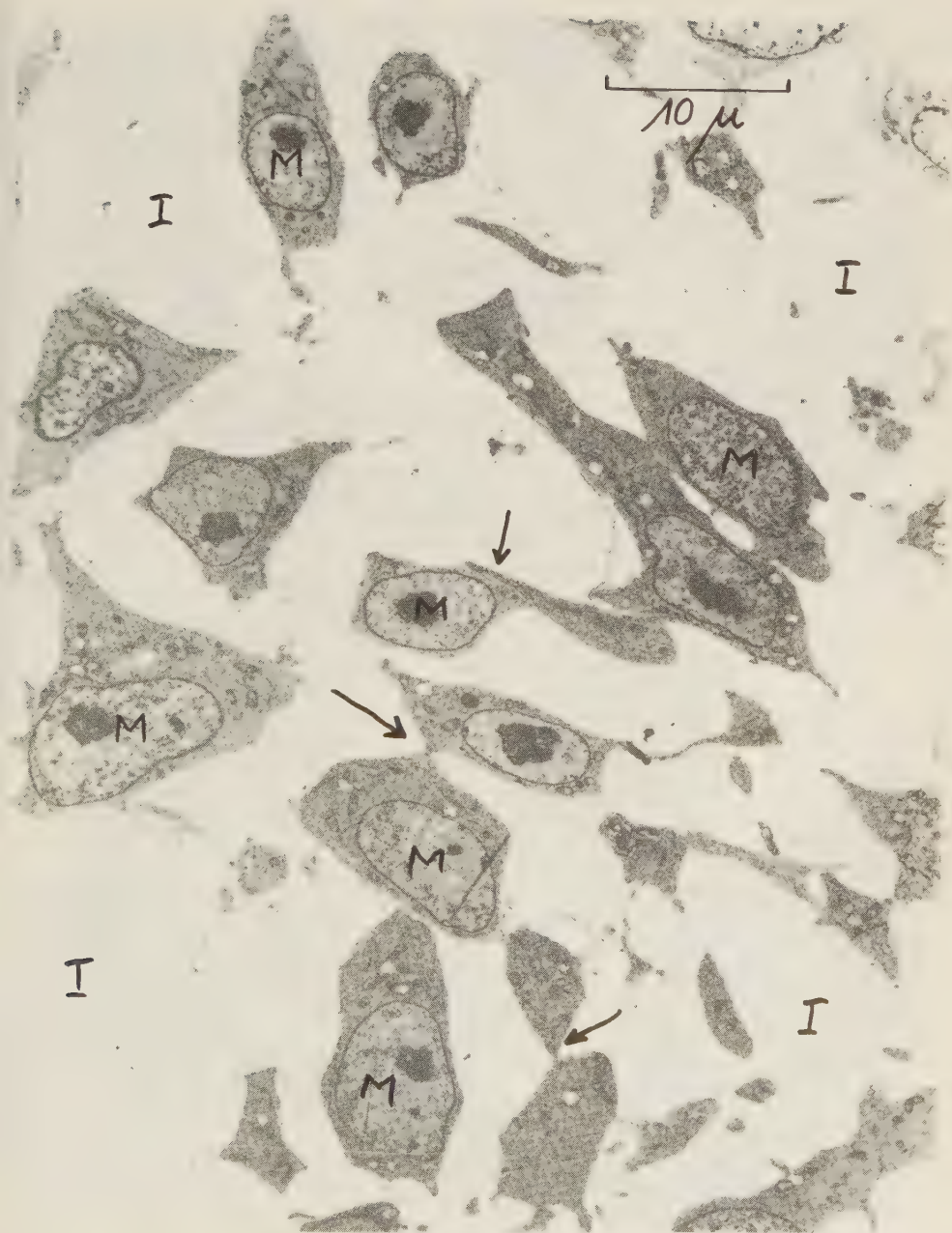


Abb. 2 Mesenchymzellen (M) aus dem paraxialen Gebiet eines Rattenembryos des Tages 9+4, bereits dichter gepackt und mit zahlreichen Kontaktstellen (↓). Im Zytoplasma viele Polysomen (O), Mitochondrien (Mi), Golgiapparate (G) und einzelne Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Retikulums (X).
(I) = mesenchymale Interzellularräume.

Vergr. 21 000

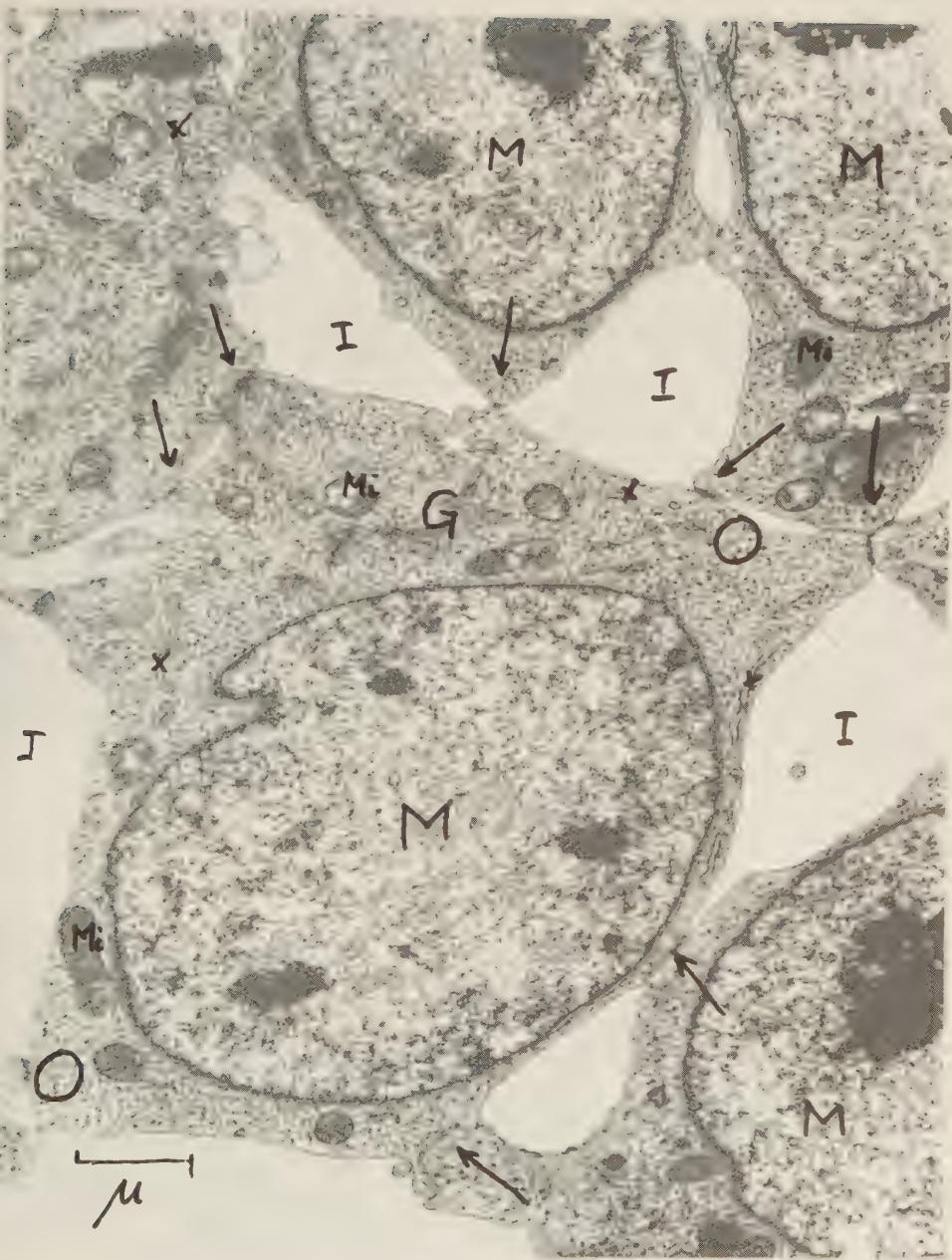


Abb. 3 Wie Abb.2. An den Kontaktstellen deutliche Verdichtungen des angrenzenden Zytoplasmas (↓). Im Zytoplasma eines Mesenchymzellfortsatzes Lipoidtropfen (L).

Vergr. 49 000

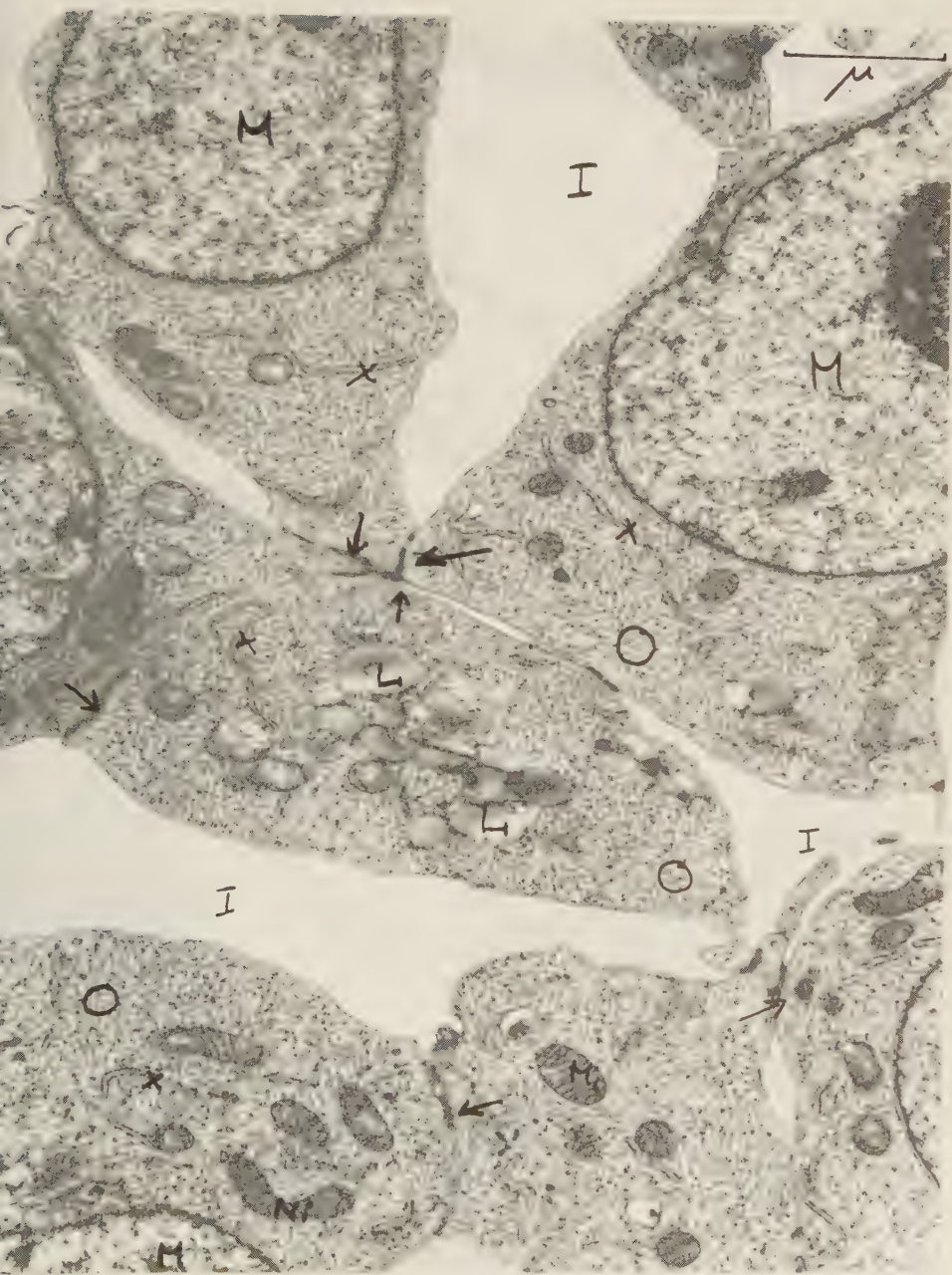


Abb. 4 Rattenembryo des Tages 9+8. Beginnende mesodermale Hohlraumbildung (X). Zellen bereits durch zahlreiche Kontaktpunkte verknüpft (↓), jedoch noch nicht polarisiert. Im oberen Bildteil eine der beiden ventralen Aorten (A).
(E) = Aortenendothel.

Vergr. 7000

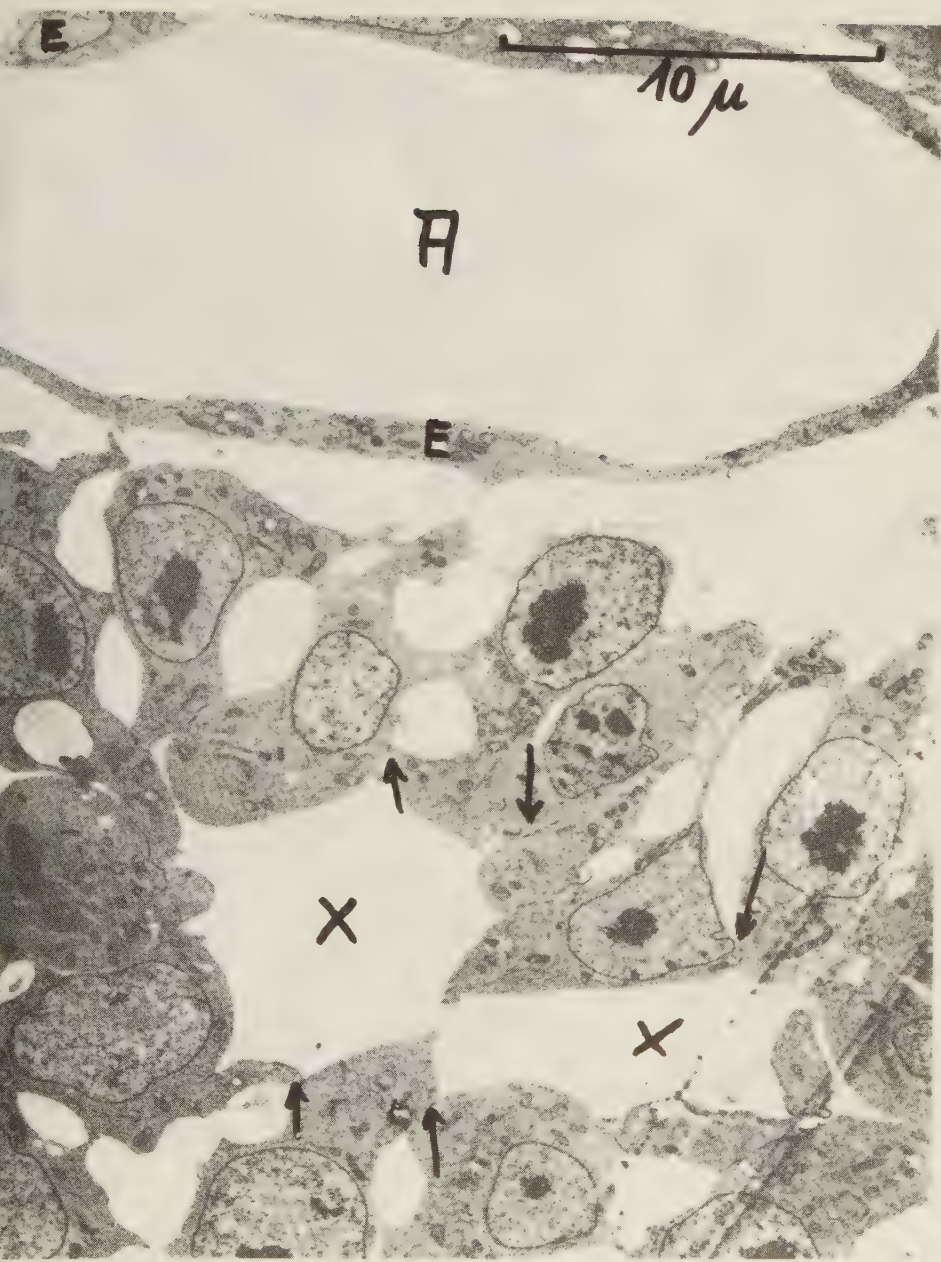


Abb. 5 Rattenembryo des Tages 9+8. Hohlraumbildung (X) in den mehr peripher gelegenen Abschnitten. Die Zellen beginnen sich zu polarisieren; basale Lage des Kerns (N), apikale Lage der Zellorganellen. Andeutung einer Abgrenzung gegen das Mesenchym (↓).

Vergr. 5000

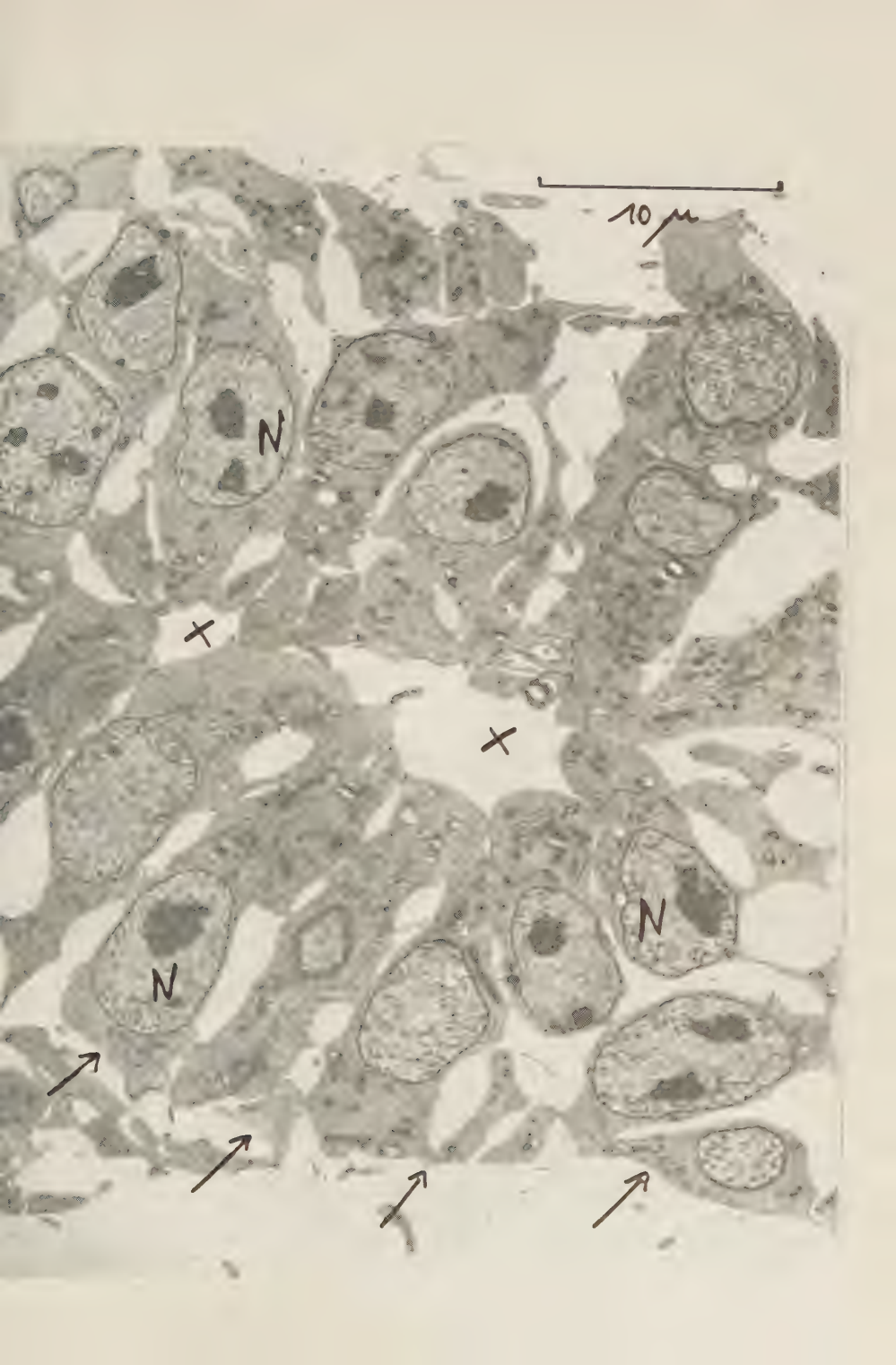


Abb. 6 Rattenembryo des Tages 9+8. Deutliche Hohlraum-
bildung (X) im Bereich der späteren Coelomhöhle.
Beginnende Polarisierung der begrenzenden Zellen.
Weite Interzellularräume (I) und schlechte Ab-
grenzung gegen das Mesenchym (*). Zum Lumen hin
dichte Zellkontakte (↓).

Vergr. 4000

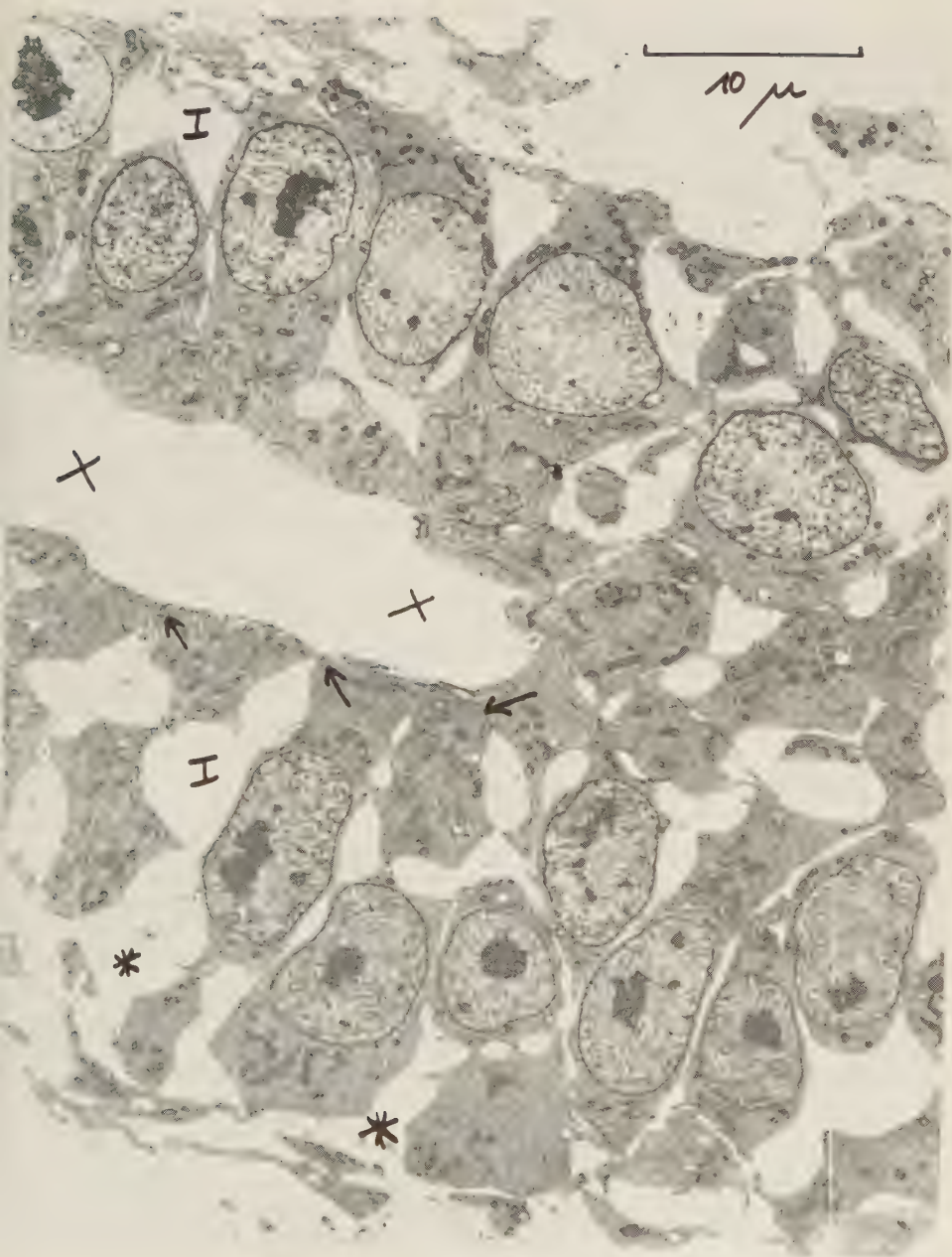


Abb. 7 Rattenembryo des Tages 11+2. Erste Andeutung einer Hohlraumbildung (X). Bereits voll ausgebildete Kontaktpunkte, kenntlich an den Verdichtungszonen des angrenzenden Zytoplasmas (↓). Im Zytoplasma freie Ribosomen (O), (M) = Mitochondrien, (eR) = Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Retikulums, (N) = Nukleus. Im beginnenden zentralen Hohlraum zahlreiche Zellfortsätze.

Vergr. 21 000

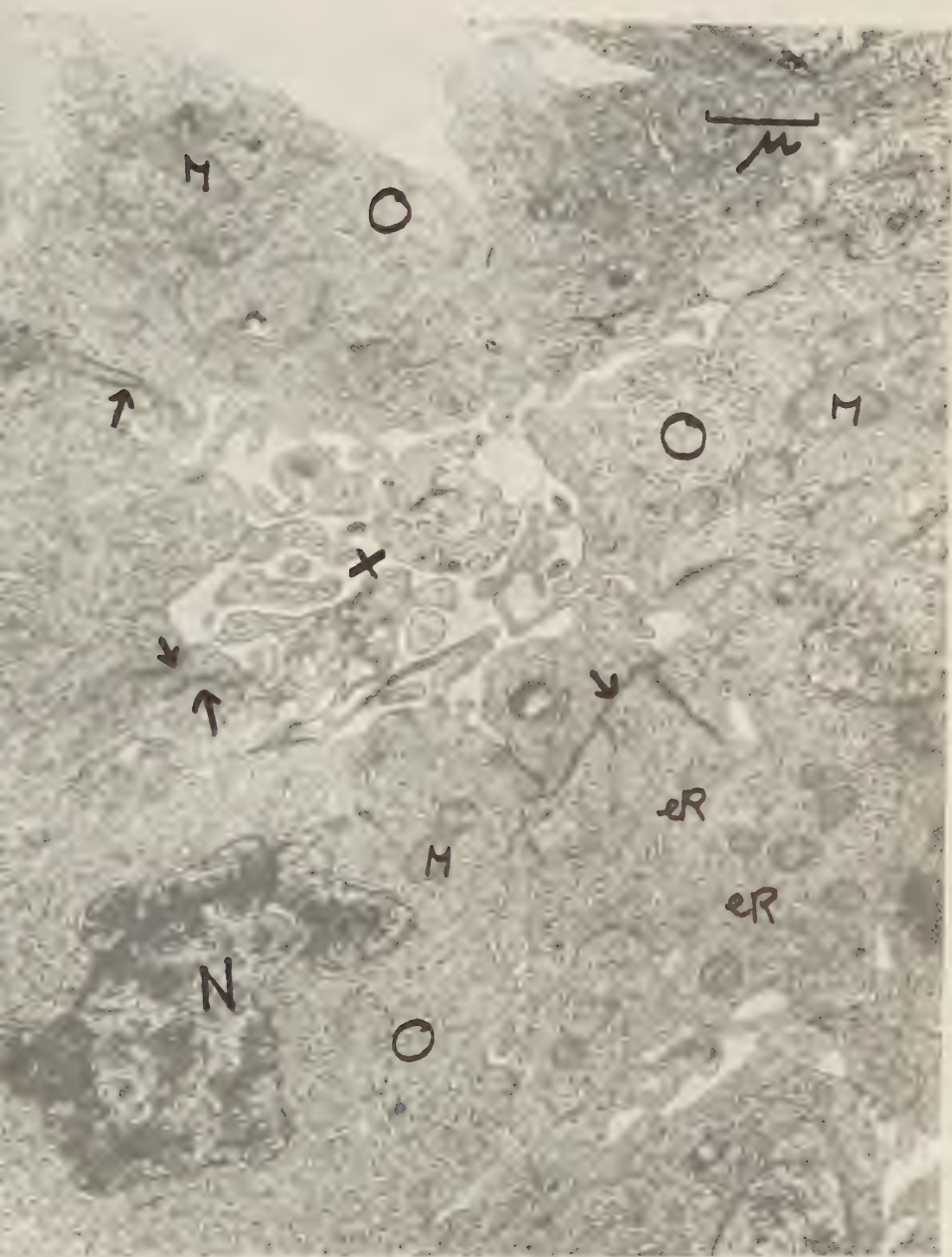


Abb. 8 Stärkere Vergrößerung aus Abb.7. Zellkontakte deutlicher sichtbar. Bei (X) zwei "close contacts", bei (↓) eine zonula occludens. Verdichtungen des angrenzenden Zytoplasmas.

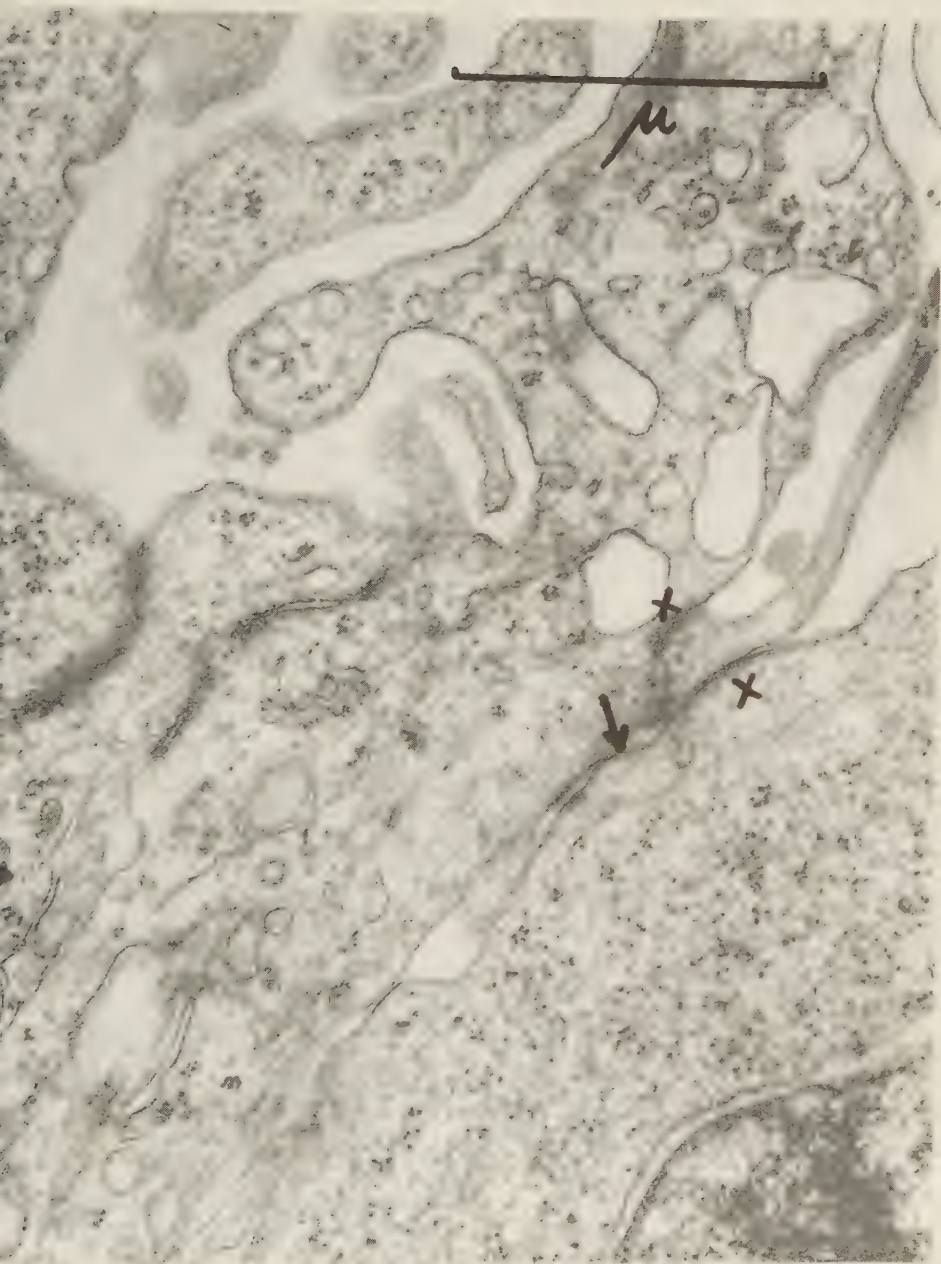


Abb. 9 Rattenembryo des Tages 11+2. Kontakte benachbarter Zellen im apikalen Bereich der Mesodermepithelien. Verengung des Interzellularraumes ($\downarrow$), teilweise Verzahnung der Zellen (*). (O) = Polysomen, (eR) = Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums, (L) = Zelleinschluß.

Vergr. 77 000

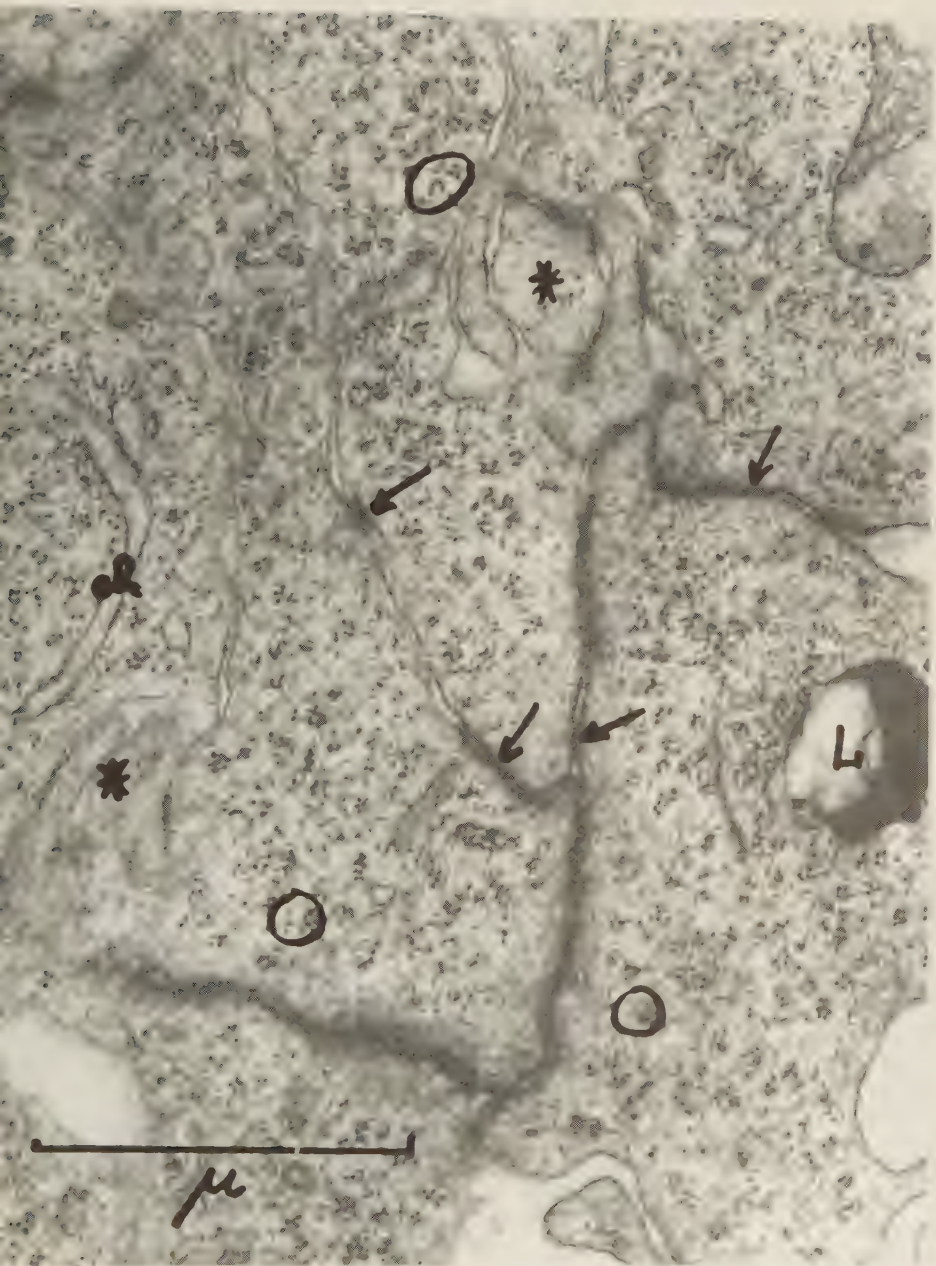


Abb.10 Rattenembryo des Tages 12+8. Wand der Coelomhöhle im Bereich der Splanchnopleura. Polarisierung der Zellen, aber keine Abgrenzung gegen das Mesenchym (M). Vorwölbung der Zellapices (X) in das Lumen der Coelomhöhle (L). Zellkontakte im apikalen Teil der Zellen (↓). Mí = Zellen in Mitose.

Vergr. 7000

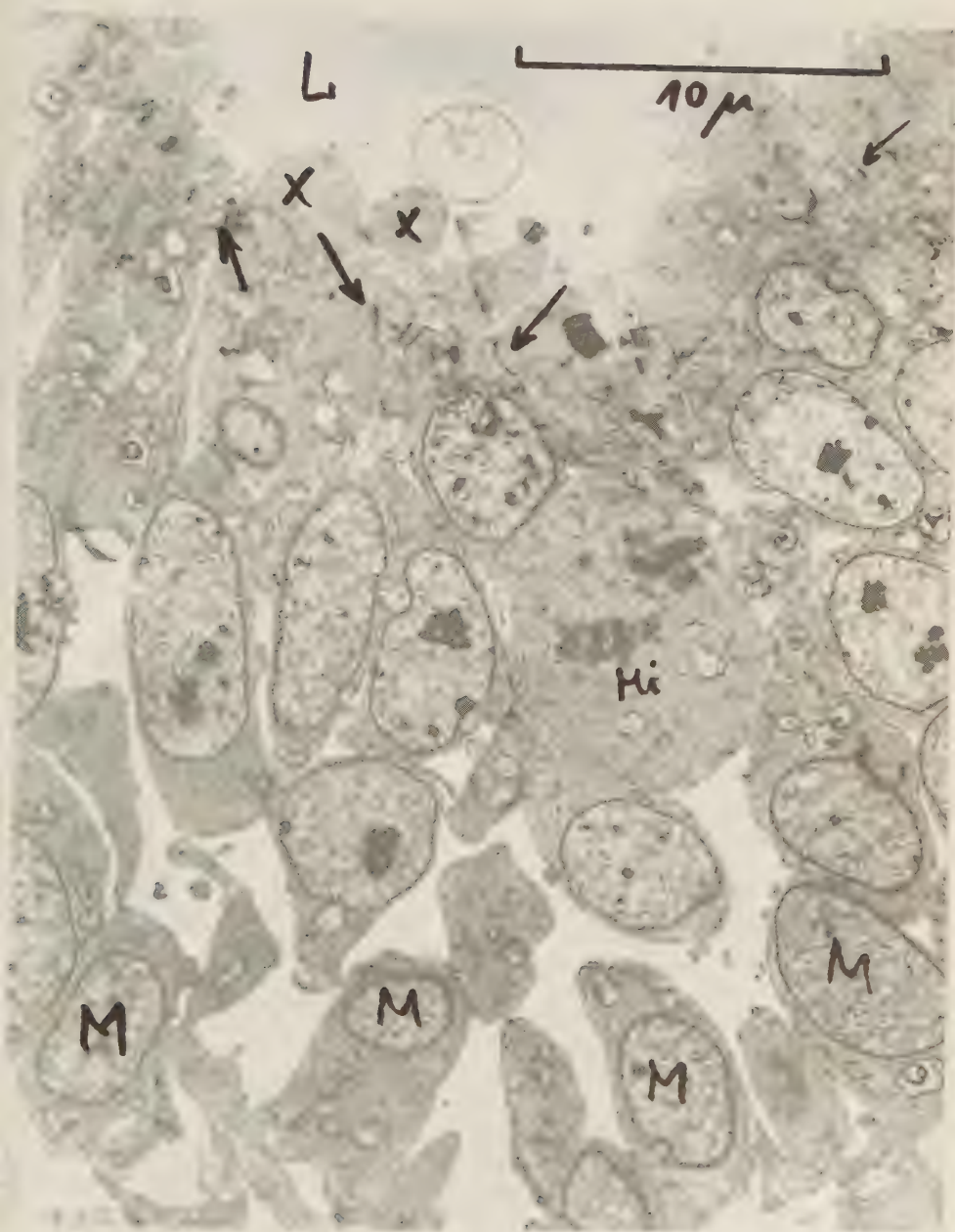
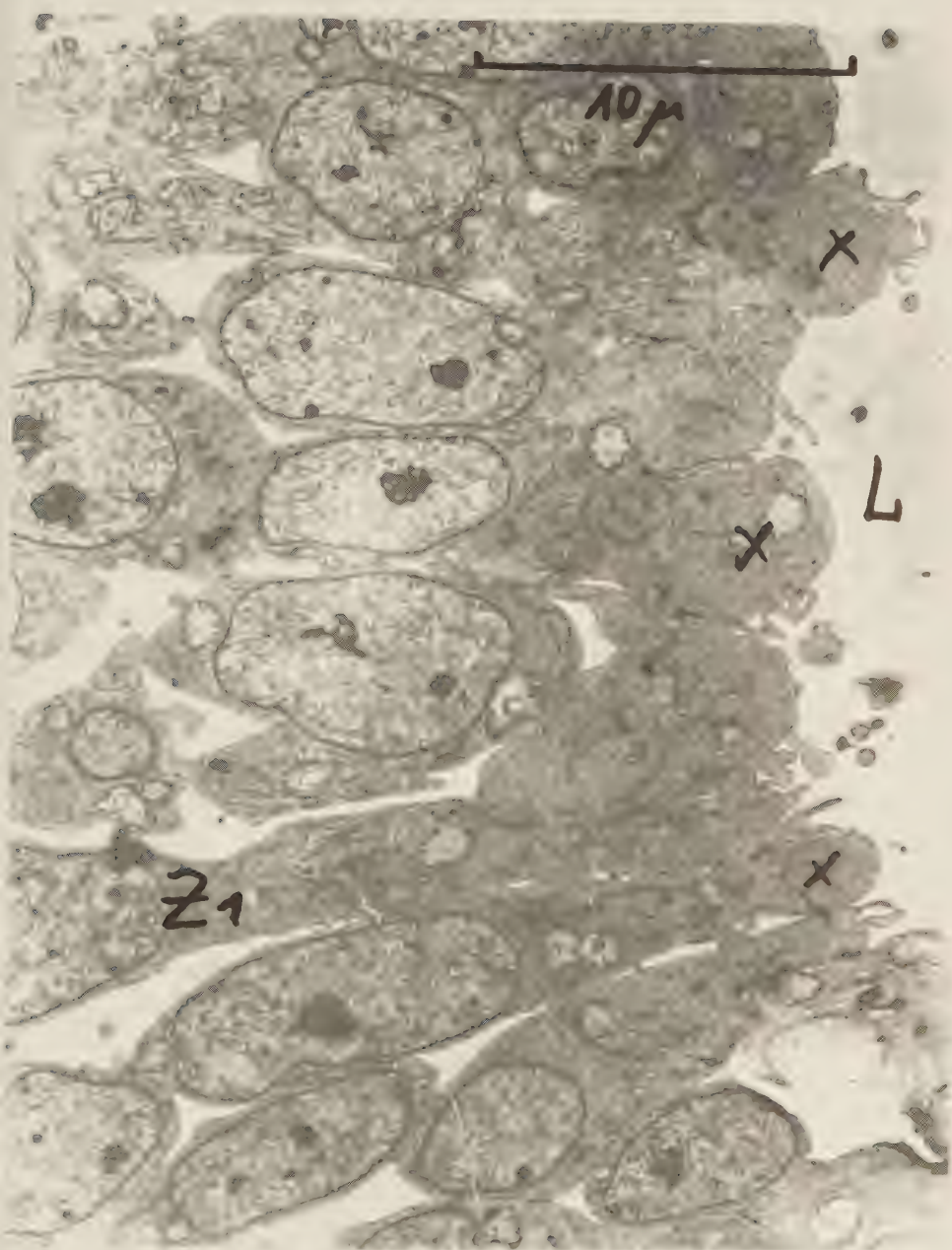


Abb.11 Rattenembryo des Tages 12+2. Coelomhöhlenwand im Bereich der Visceropleura. Deutliche Polarisierung der Zellen mit Vorwölbung der Apices (X) in das Lumen (L) der Coelomhöhle. Zellen (Z_1) außerhalb des Epithelverbandes erreichen noch das Lumen. Keine Abgrenzung zum Mesenchym.

Vergr. 7000



Herrn Prof. Dr. med. Hans-Joachim Merker danke ich
für die Überlassung des Themas

" Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die
Bildung der Somiten und der Coelomhöhle bei Ratten-
embryonen (Tag 9 + 2 bis 13 + 2) ".

Lebenslauf

Ich wurde am 27. August 1944 als Tochter des Arztes Dr. Gehard Pfeiffer und der Ärztin Dr. Brigitte Pfeiffer in Witzenhausen/Hessen geboren. Mein Vater gilt seit 1945 als vermißt. Von 1951 bis 1964 besuchte ich die Grundschule und das Realgymnasium in Kassel. Nach dem Abitur (Ostern 1964) arbeitete ich ein Jahr in einem Kinderheim in den USA. Vom SS 1965 bis SS 1967 studierte ich Medizin an der Universität Marburg/Lahn, vom WS 1967 bis SS 1968 an der Universität Hamburg und vom WS 1968 ab an der Freien Universität Berlin, wo ich am 11. 2. 1971 das Staatsexamen ablegte. Seit April 1971 arbeite ich als Medizinalassistentin.

